UNIVERSITE DE STRASBOURG FACULTE DE PHARMACIE

ANNÉE SCOLAIRE 1944-1945. N°

Contribution Expérimentale à l'étude de l'Action des Anesthésiques Locaux sur les Larves de Batraciens

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 26 Juillet 1945
devant la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

Roger EDIER
Pharmacien
Diplômé de Bactériologie

Examinateurs de la Thèse : Monsieur le Professeur LAPP, Président.
Monsieur le Professeur CORDIER.
Monsieur le Professeur GUILLAUME.
Monsieur le Professeur DASTUGUE.
} Juges

IMPRIMERIE
GÉNÉRALE
Jean de Bussac
2, Cours Sablon.
Clermont - Fd

EDIER Roger

Contribution expérimentale à l'étude de l'action des anesthésiques locaux sur les larves de batraciens.

Clermont - Ferrand, Imp. Générale, Jean de Bussac, 1945, in-8°, 56 p.

Doct. Univ. Pharm. Strasbourg. N°

EDIER Roger

Contribution expérimentale à l'étude de l'action des anesthésiques locaux sur les larves de batraciens.

Clermont - Ferrand, Imp. Générale, Jean de Bussac, 1945, in-8°, 56 p.

Doct. Univ. Pharm. Strasbourg. N°

EDIER Roger

Contribution expérimentale à l'étude de l'action des anesthésiques locaux sur les larves de batraciens.

Clermont - Ferrand, Imp. Générale, Jean de Bussac, 1945, in-8°, 56 p.

Doct. Univ. Pharm. Strasbourg. N°

EDIER Roger

Contribution expérimentale à l'étude de l'action des anesthésiques locaux sur les larves de batraciens.

Clermont - Ferrand, Imp. Générale, Jean de Bussac, 1945, in-8°, 56 p.

Doct. Univ. Pharm. Strasbourg. N°

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 26 Juillet 1945 devant la Faculté de Pharmacie de Strasbourg pour obtenir le grade de Docteur de l'Université (Mention Pharmacie)

par

Roger EDIER

Pharmacien

Diplômé de Bactériologie

Examinateurs de la Thèse :

Monsieur le Professeur LAPP, Président.
Monsieur le Professeur CORDIER.
Monsieur le Professeur GUILLAUME.
Monsieur le Professeur DASTUGUE.

} **Juges**

IMPRIMERIE
GÉNÉRALE
Jean de Bussac
2, Cours Sablon,
Clermont - Fd

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ❋, I. ✪, C. ❁
VOLMAR, *Assesseur*, ❋, I. ✪.
MARANDON, *Secrétaire*, ❋, ⚸, ⚷, ✪.

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ❋, I. ✪, C. ❁.	Bactériologie.
	N.	Botanique
	VOLMAR, ❋, I. ✪.	Chimie organique.
	GUILLAUME, O. ❋, ⚸, I. ✪, O. ❁	Pharmacie galénique.
	LAPP, I. ✪.	Chimie analytique.
	CORDIER, ✪.	Pharmacie chimique.
	R. SARTORY, ✪, O. ❁	Matière médicale.
	DUQUENOIS.	Toxicologie.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	A. SARTORY.	Hygiène.
	N.	Hydrologie.
	VOLMAR.	Chimie minérale.
	GUILLAUME.	Zoologie
	LAPP.	Physique
	N	Législation et Déontologie.
	CORDIER.	Chimie biologique.
	R. SARTORY.	Cryptogamie.
	N	Pharmacodynamie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	COLLARD, ❋ ⚸, I. ✪.	Chimie pharmaceutique.
	HASSELMANN.	Chimie et Physique.
	JÆGER.	Histoire naturelle.
	MEYER et LEDOUX.	Bactériologie et Parasitologie

A MONSIEUR LE PROFESSEUR Ch. LAPP

Professeur de Chimie Analytique et de Toxicologie
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider cette thèse.
Qu'il trouve ici toute notre gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. CORDIER

Professeur de Pharmacie Chimique

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GUILLAUME

Professeur de Pharmacie Galénique

En témoignage de notre vive reconnaissance pour avoir accepté de faire partie de notre jury.

A NOS MAITRES

DE L'ECOLE DE PLEIN EXERCICE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE DE CLERMONT-FERRAND
ET DE LA FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

A MON MAITRE, AMI ET CAMARADE DE PROMOTION

MONSIEUR LE DOCTEUR G. DASTUGUE

Docteur en Pharmacie
Docteur ès Sciences
Pharmacien chef des Hôpitaux
Professeur de Chimie Biologique à l'École de plein exercice
de Médecine et de Pharmacie de Clermont-Ferrand

En hommage reconnaissant pour la bienveillance amicale dont il a toujours fait preuve à notre égard.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

A MA MERE

Toute ma reconnaissance pour les sacrifices qu'ils ont faits pour moi.

A MA FEMME

Ma meilleure collaboratrice.

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

INTRODUCTION

Etudier les modalités du pouvoir « narcotique » exercé par les anesthésiques locaux sur les larves de Batraciens, tel est le sujet de travail que notre maître et ami, le Professeur Dastugue, de l'Ecole de plein exercice de médecine et de pharmacie de Clermont-Ferrand, nous a suggéré d'entreprendre pour notre thèse de Doctorat en Pharmacie.

Nous le remercions de nous avoir confié ces recherches qui font partie d'un ensemble plus vaste, un premier mémoire effectué par Mme Ferrand (2) ayant déjà traité un objet analogue en ce qui concerne les barbituriques ; un troisième étant projeté en ce qui concerne les anesthésiques généraux. Mais nous voudrions insister surtout, ici dans cette introduction, sur une difficulté considérable due aux circonstances et contre laquelle nous sommes venus nous heurter, lorsque nos recherches expérimentales terminées, nous avons dû songer à la rédaction.

Le sujet traité se prêtait volontiers, en effet, à de vastes développements bibliographiques relatifs aux larves de Batraciens d'une part, notre réactif biologique, et d'autre part aux propriétés physico-chimiques et pharmacodynamiques générales des anesthésiques locaux.

Nous étions donc placés devant l'alternative suivante : ou donner à notre mémoire toute son étendue normale, ce qui impliquait une rédaction de 150 ou 200 pages, impossible à imprimer dans les difficultés que l'on connaît, ou chercher à résumer le plus possible pour pouvoir présenter un travail plus réduit, mais fixé noir sur blanc en caractères plus convenables.

Il nous a paru plus correct vis-à-vis des membres du jury de thèse et de la Faculté qu'ils représentent d'adopter cette dernière solution.

Pour la mettre à exécution, nous avons dû délibérément supprimer de façon totale toute la partie bibliographique, renvoyant en ce qui concerne les détails de technique et les larves de Batraciens à deux thèses précédemment élaborées dans le laboratoire de M. Dastugue (1 et 2) et pour les généralités relatives aux anesthésiques locaux, aux traités classiques de pharmacodynamie (Hazard, Tiffeneau, Launoy, etc...). On ne sera donc pas surpris de nous voir commencer *ex-abrupto* par la partie expérimentale divisée elle-même en huit chapitres, à savoir :

I. Influence de la nature de l'anesthésique et de sa concentration.

II. Influence de la température.

III. Influence de l'acidité ionique.

IV. Influence des cristalloïdes.

V. Influence d'un certain nombre d'autres substances favorisantes ou antagonistes.

VI. Influence de l'âge des larves en expérience.

VII. Influence du nombre des larves en expérience.

VIII. Influence de la répétition des expériences.

En terminant, nous nous faisons un devoir et un plaisir de remercier notre camarade de promotion, M. Dastugue, de son obligeance à notre égard, et M. le Professeur Lapp, de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, de l'honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de la soutenance de cette thèse.

Nous adressons également notre expression de gratitude à tous nos maîtres de l'Ecole de plein exercice de Médecine et de Pharmacie de Clermont-Ferrand et de la Faculté de Pharmacie de Paris pour l'enseignement qu'ils nous ont si bien dispensé au cours de nos années de scolarité.

---

(1) M. Souquières. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Strasbourg 1943.

(2) Mme Ferrand. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Strasbourg 1944.

CHAPITRE Ier

INFLUENCE DE LA NATURE DE L'ANESTHÉSIQUE ET DE SA CONCENTRATION

Technique.

Nous serons très brefs sur les détails de technique, renvoyant à ce sujet à deux thèses élaborées dans le même laboratoire et présentées également devant la Faculté de Pharmacie de Strasbourg : *Recherches pharmacodynamiques sur les larves de Batraciens*, par J. Souquière, 1943, et *Contribution à l'étude de l'action des barbituriques sur les Poïkilothermes*, par Mme Ferrand, 1944 ; rappelons simplement que les larves de Batraciens (*Rana Temporaria*), étaient prélevées dans un bac où ne s'étaient développés que des individus provenant de la même ponte. Ce choix des Têtards était tel que tous les individus étaient de la même taille. Cette taille était mesurée directement sur les Têtards, l'expérience terminée, de façon à ce que les indications très précises ainsi fournies puissent permettre d'éliminer le facteur âge du Têtard qui n'a pas toujours une influence négligeable dans les expériences.

Les animaux étaient répartis par lots de trois dans des bocaux de verre identiques (Becher) et renfermant 250 cm3 de la solution d'anesthésique à essayer et à des concentrations diverses. La température était notée avec soin, nous reviendrons d'ailleurs sur l'importance de ce facteur dans toutes les études pharmacodynamiques poursuivies chez les Poïkilothermes.

Pour chaque expérience, nous avons pu noter un temps d'endormissement ; le Têtard perd peu à peu ses mouvements

spontanés, mais continue à répondre vivement aux excitations extérieures : agitation du bocal ou attouchements de la queue au moyen d'un agitateur de verre. Puis ces réponses elles-mêmes deviennent de plus en plus faibles jusqu'à la perte absolue de tout reflexe. A ce moment, nous avons considéré le Tétard comme endormi. Ces Tétards endormis étaient alors enlevés de la solution d'anesthésique et immergés immédiatement dans de l'eau pure. Nous avons alors observé un second temps dit temps de réveil.

Après un sommeil de durée très variable, pouvant aller de quelques minutes à plusieurs heures, le Tétard anesthésié passe, en sens inverse, par tous les stades décrits pour l'endormissement jusqu'à retrouver une activité spontanée normale. Dans nos expériences, nous avons noté le moment où le Tétard recommence à répondre, par une agitation si faible soit-elle, à un attouchement léger de la queue.

Notons encore ce détail important ; toutes nos solutions d'anesthésique ont été faites dans l'eau de ville ; nos Tétards n'étaient, en effet, pas élevés dans l'eau distillée, mais les bacs d'élevage étant tous à base d'eau de ville, nous avons tenu à ce que les solutions des médicaments essayés soient faites avec la même eau. De même, pour évaluer le temps de réveil, nous plongions les animaux endormis dans des bacs remplis d'eau de ville. Pour chaque série d'expérience, nous disposions d'un bocal témoin rempli d'eau de ville dans lequel les Tétards étaient dans des conditions absolument identiques aux Tétards soumis à l'action de l'anesthésique en essai ; nous n'avons tenu compte des résultats que si rien d'anormal ne s'était passé dans le bocal témoin. Les moyennes de nos résultats peuvent se schématiser dans le tableau suivant où les temps d'endormissement (T) dans les solutions d'anesthésiques et les temps de réveil (R) dans l'eau pure sont exprimés en minutes.

Voir tableau page suivante.

Interprétation et discussion.

En présence du tableau de la page ci-contre, il convient tout d'abord d'essayer de préciser à quoi correspondent les *temps d'endormissement* (E) et les *temps de réveil* (R) qui s'y trouvent portés. En nous appuyant sur les recherches et exposés précédents de Mme Ferrand sur les barbituriques, agissant dans des conditions semblables, nous pourrions dire que le temps d'endormissement correspond au temps nécessaire pour que

TABLEAU I

Anesthésique	1 p. 500	1 p. 1.000	1. p. 2.500	1 p. 5.000	1 p. 10.000	1 p. 25.000	1 p. 50.000
Chlorhydrate de cocaïne							
1 p. 500 pH-6.95	E. 11 m.	17 m.	45 m.	112 m.	195 m.	Pas d'E. après 24 h.	
1 p. 25000 pH-7.05 . . .	R. 52 m.	18 m.	12 m.	5 m.	41 m.		Pas d'endormissement apparent après 24 heures
Chlorhydrate d'EucaïneB							
1 p. 500 pH-6.95	E. 10 m.	20 m.	50 m.	190 m.	390 m.	665 m.	
1 p. 25000 pH-6.95 . . .	R. 52 m.	25 m.	6 m.	5 m.	5 m.	4 m.	
Novocaïne					Rien d'apparent après 24 h.		
1 p. 500 pH-6.65	E. 27 m.	42 m.	508 m.	1180 m.			
1 p. 25000 pH-6.95 . . .	R. 20 m.	14 m.	9 m.	5 m.			
Stovaïne							
1 p. 500 pH-6.85	E. 4 m.	6 m.	11 m.	21 m.	52 m.	220 m.	
1 p. 25000 pH-6.95 . . .	R. 71 m.	48 m.	11 m.	10 m.	10 m.	6 m.	

l'anesthésique atteigne dans les centres nerveux une concentration liminaire efficace. De même, le temps que nous appelons temps de réveil correspond au temps que nécessite l'élimination progressive de la substance pour que son taux de concentration dans les centres nerveux descende au-dessous de cette concentration liminaire. Les temps sont évidemment fonction d'un très grand nombre de conditions dont nous nous sommes efforcés d'étudier quelques-unes dans le cours de ce travail ; citons notamment la nature même de l'anesthésique, c'est-à-dire sa constitution physico-chimique ; la concentration des solutions dans lesquelles les animaux sont plongés ; l'acidité ionique de ces solutions ; leur température ; l'influence de certains agents favorisants ou antagonistes, etc...

Nous allons voir ici deux de ces facteurs sur lesquels le précédent tableau nous donne déjà quelques indications.

1° Tout d'abord, la nature propre de l'anesthésique a une influence considérable qui ressort particulièrement des résultats obtenus.

En tenant compte des moyennes présentées dans le tableau I, on peut dire que les pouvoirs narcotiques propres à chaque anesthésique s'échelonnent de telle sorte que si l'on prend celui de la novocaïne pour unité, ceux du chlorhydrate de cocaïne et du chlorhydrate d'eucaïne B seront voisins de 2,5 et celui de la stovaïne de 10.

Rappelons ici que, d'après Lebeau et Courtois, la stovaïne a un pouvoir anesthésique au moins égal à celui de la cocaïne sur les nerfs sensitifs dénudés, trois fois plus grand sur les nerfs moteurs, dix fois moindre sur la cornée. (J. Régnier, 1929), et possède une toxicité trois fois plus petite.

D'après les mêmes auteurs, la novocaïne est six fois moins toxique que la cocaïne, mais son pouvoir anesthésique de surface est quatorze fois moindre que celui de la cocaïne ; de même elle est un peu moins toxique que la stovaïne, mais aussi moins active.

Les travaux du Professeur J. Régnier ont permis de classer les principaux anesthésiques actuellement utilisés, dans le tableau que voici qui donne les valeurs relatives de chacun d'eux sur les muqueuses ou les nerfs dénudés.

TABLEAU II

Anesthésique	Muqueuses (cornée du lapin)	Nerfs moteurs	Nerfs sensitifs	
			Sciatique (grenouille)	Lingual (chien)
Chlorhydrate de cocaïne.	1	1	1	1
Chlorhydrate de pseudo-cocaïne droite.	0,8	20	2,6	3
Stovaïne.	0,11	3,1	1	0,8
Novocaïne.	0,07	à	0,7	0,8
Butellline	3,3	4,7	1,4	1,2
Tutocaïne.	0,6	1,2	1,1	1,5

Il faut remarquer que dans chaque colonne, la cocaïne a été prise comme unité, mais il ne s'en suit pas qu'elle a la même activité sur tous les éléments nerveux.

2° Pour un anesthésique donné, on note d'après les résultats du tableau I l'influence de la concentration : la narcose se produisant d'autant plus rapidement que la solution est plus concentrée et aucun phénomène de narcose n'apparaissant lorsque la concentration de l'anesthésique tombe à la valeur de 1 pour 50.000. On peut souligner également les variations opposées des temps d'endormissement et de réveil. En effet, pour un anesthésique donné, considéré à des concentrations diverses, on constate que les temps d'endormissement et de réveil, c'est-à-dire en d'autres termes les vitesses de pénétration et de fixation d'une part, et les vitesses de défixation et d'élimination d'autre part, varient en sens inverse. Plus la concentration du liquide d'immersion est forte, plus le temps d'endormissement est court et plus long le temps de réveil. Inversement plus la concentration est faible, plus long est le temps d'endormissement et plus court le temps de réveil.

Quoiqu'il en soit, un point dont l'importance est capitale pour la suite de nos expériences, est que : ces temps d'endormissement et de réveil sont, dans des conditions identiques, suffisamment constants d'une expérience à l'autre pour que les moyennes que nous venons de donner soient considérées comme possédant une réelle valeur et que l'on puisse étudier de façon systématique les facteurs énumérés plus haut et susceptibles de les faire varier.

3° Si nous comparons les résultats du précédent tableau à ceux qui ont déjà été acquis dans des conditions semblables avec d'autres substances, nous voyons que l'action narcotique que possèdent les anesthésiques locaux, vis-à-vis des larves de batraciens, est dans l'ensemble supérieure en intensité à celles que possèdent les barbituriques, pour lesquels (sauf le cas de l'Evipan sodique), aucune action apparente ne s'est manifestée au bout de 24 heures à partir des dilutions inférieures à 1 p. 1500 ou à 1 p. 2500.

Avant de terminer, nous devrions poser la question suivante, qui a surtout une importance théorique :

« Ce que nous estimons par le temps d'endormissement et « le temps de réveil correspond-il à un véritable pouvoir nar- « cotique ou à une simple action toxique ? »

Si nous suivons pour répondre les indications données par P. Régnard qui, le premier en 1885, eut l'idée d'immerger des Cyprins dans une solution de cocaïne et découvrit les phénomènes ainsi produits, ainsi que celles du Professeur Régnier et de ses collaborateurs qui ont étudié l'action de certains anesthésiques locaux sur le *Gastérosteus aculeatus* (Epinoche), nous pouvons dire qu'il se produit une anesthésie locale des nerfs branchiaux se traduisant par l'abolition des réflexes respiratoires et par suite l'arrêt du mouvement des ouïes et de la bouche, ces phénomènes amenant l'état qualifié ici de narcotique et que Régnard appelait mort apparente ou léthargie.

En d'autres termes, il y aurait donc finalement dans ces essais apparition de phénomènes mixtes, à la fois d'action anesthésique locale et d'action toxique générale. Quoiqu'il en soit, s'il y a là un point d'interprétation sur lequel il serait loisible de revenir, cela ne diminue en rien la valeur de nos résultats expérimentaux qui, pouvant être facilement reproduits dans les conditions que nous avons décrites, pourront toujours utilement servir de terme de comparaison.

Nous reviendrons d'ailleurs sur cette discussion théorique pour y apporter un élément personnel au paragraphe de l'action de la caféïne.

Conclusions.

En immergeant des larves de Batraciens dans des solutions d'anesthésiques locaux (Chlorhydrate de cocaïne, Stovaïne, Novocaïne, Chlorhydrate d'Eucaïne B), il est possible de déterminer une phase de narcose aisément réversible et par l'appréciation du temps d'endormissement et du temps de réveil,

tels que nous les avons définis, on peut étudier de façon précise sur ces larves une série de facteurs pouvant influer sur le pouvoir narcotique de l'anesthésique donné. Dans ces conditions, et sous réserve de précisions sur lesquelles nous allons revenir pour quelques-uns de ces facteurs, nous pouvons dire que :

1° Pour un anesthésique donné, le pouvoir narcotique croit avec la concentration ; ainsi avec le Chlorhydrate de cocaïne on obtient :

— Un endormissement en 195 m. dans une solution à 1 p. 10.000.
— Un endormissement en 112 m. dans une solution à 1 p. 5.000
— Un endormissement en 45 m. dans une solution à 1 p. 2.500
— Un endormissement en 17 m. dans une solution à 1 p. 1.000
— Un endormissement en 11 m. dans une solution à 1 p. 500

Remarquons que le temps de réveil varie dans des proportions sensiblement inverses, c'est-à-dire que plus l'endormissement est lent à apparaître, plus le réveil s'effectue facilement et vice-versa ; ainsi toujours pour le Chlorhydrate de cocaïne, on a obtenu :

— Un réveil en 52 m. pour une solution à 1 p. 500
— Un réveil en 18 m. pour une solution à 1 p. 1.000
— Un réveil en 12 m. pour une solution à 1 p. 2.500
— Un réveil en 5 m. pour une solution à 1 p. 5.000
— Un réveil en 4 m. pour une solution à 1 p. 10.000

2° En ce qui concerne les degrés de pouvoir narcotique de chacun des anesthésiques, ceux-ci s'échelonnent de telle sorte que si on prend celui de la Novocaïne pour unité, ceux du Chlorhydrate de cocaïne et du Chlorhydrate d'Eucaïne B, seront voisins de 2,5 et celui de la Stovaïne de 10.

3° Si on compare le pouvoir narcotique que possèdent les anesthésiques locaux à celui manifesté par d'autres substances, sur le même réactif biologique, on voit qu'ils figurent parmi les plus intenses et les plus faciles à apprécier.

CHAPITRE II

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE

On sait quelle importance présente pour toutes les réactions qui se passent chez un Poïkilotherme, que ce soit au laboratoire ou dans la nature même, l'influence de la température. A la différence des Homéothermes, les Poïkilothermes, très improprement appelés animaux à sang froid, ne possédant pas d'appareil thermo-régulateur, tendent à subir, de façon plus ou moins passive, les variations de température du milieu extérieur. Et compte tenu des températures incompatibles avec le maintien de la vie, il reste que dans une certaine marge on peut dire, en exagérant à peine, que toutes les réactions biochimiques qui se passent à l'intérieur de ces Poïkilothermes subissent l'influence de la température presque dans les mêmes conditions que les réactions exécutées dans un tube à essais. Chaque fois donc que le pharmacologue travaille sur un Poïkilotherme, la règle essentielle est d'opérer à température constante, ou tout au moins de noter à chaque série d'expérience la température du milieu extérieur, de manière à ce que ces expériences puissent être répétées ultérieurement avec quelque chance de succès.

Technique employée.

Pour étudier l'action de l'anesthésique choisi, le Chlorhydrate de cocaïne, sur le Têtard de *Rana temporaria*, en fonction de la température, nous opèrerons de la façon suivante :

En ce qui concerne les temps d'endormissement, des séries de Têtards sont immergés dans des solutions de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2.500 préalablement portées et ensuite maintenues à des températures de 2, 18, 24 et 30°, jusqu'au moment de leur endormissement. A cet instant, les larves sont uniformément immergées dans de l'eau de ville à température 18°.

Chaque série d'expérience comporte des Têtards témoins immergés dans de l'eau à 2, 18, 24 et 30° où ils restent, non pas de façon indéfinie, mais seulement un temps égal à celui nécessaire à l'endormissement des larves en expérience. A ce moment, variable d'une expérience à l'autre, selon la température, les Têtards témoins sont uniformément immergés dans l'eau de ville à 18°. Dans ces conditions, dans la marge de température étudiée (de 2 à 30°), les Têtards témoins n'ont présenté aucun phénomène anormal et nous nous croyons, par conséquent, autorisés à tenir pour valables les résultats que nous avons obtenus dans les solutions de Chlorhydrate de cocaïne portées et maintenues à une température donnée. Au-dessus de 30°, toute élévation de température devient rapidement mortelle pour les larves.

En ce qui concerne les réveils, les larves sont plongées dans une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 500 à la température de 18° jusqu'au moment de l'endormissement et réparties dans des bacs d'eau de ville préalablement portée et maintenue à 2, 18, 24 et 30°.

Résultats obtenus.

Dans ces conditions, nous avons obtenu comme moyenne de nos expériences :

TABLEAU III

Température.....	2°	18°	24°	30°
Endormissement..	348 m.	51 m.	17 m.	4 m.
Réveil.....	154 m.	13 m.	12 m.	9 m.

Interprétation et discussion.

On voit que dans la marge de nos conditions d'expériences le temps d'apparition de la narcose est d'autant plus réduit que la température est plus élevée, toutes autres conditions restant bien entendu égales par ailleurs. Il nous paraît intéressant de comparer ces résultats à ceux obtenus par Weber en 1919, avec l'éther et Mme Ferrand en 1944, avec les barbituriques.

Weber travaillant sur des Tétards de *Bufo vulgaris* (taille moyenne), a montré que ces animaux sont très sensibles à l'influence de l'eau éthérée à 1 p. 100 et qu'ils peuvent s'y endormir en quelques secondes. Recherchant l'influence de la température, il note que le maximum de rapidité de l'apparition du sommeil se situe aux températures les plus basses (0°), puis la courbe s'élève pour atteindre son sommet à 20° et redescendre un peu à 30°. C'est donc à 20° que les Tétards plongés dans l'eau éthérée s'endorment le moins rapidement. Comme l'absorption de l'éther se fait en partie par la peau, il serait possible, d'après l'auteur, qu'il y ait un optimum de défense des séguments vis-à-vis de l'anesthésique, par l'intermédiaire sans doute de la sécrétion glandulaire de l'épiderme.

Mme Ferrand, au contraire, travaillant avec du Soneryl à 1 p. 1000 et sur des larves de *Rana Temporaria*, a obtenu comme nous-mêmes, entre 3° et 30°, une action narcotique d'autant plus rapide que la température était plus élevée.

Conclusion.

L'influence de la température sur l'action narcotique des anesthésiques locaux chez les larves de Batraciens, ressort nettement de nos expériences. Les températures élevées, quand elles ne deviennent pas toxiques, ont une action très favorables sur la vitesse d'apparition de la narcose, alors que les basses températures retardent considérablement et de façon très régulièrement progressive le moment de l'endormissement.

CHAPITRE III

INFLUENCE DE L'ACIDITÉ IONIQUE

L'influence exercée par l'acidité ou l'alcalinité sur l'action des anesthésiques locaux, a déjà fait l'objet de nombreux travaux. Nous voulons surtout faire ici allusion à l'ensemble des remarquables expériences élaborées par le Professeur J. Régnier et son Ecole. Toutefois, à notre connaissance rien n'a été fait à ce point de vue en ce qui concerne les larves de Batraciens.

Technique employée.

Nous utilisons des solutions de phosphate mono et disodique M/3 que l'on dilue au quart pour l'emploi. Dans ces conditions, on obtient des solutions assez tamponnées pour neutraliser de façon satisfaisante les écarts de pH que peut présenter une solution d'anesthésique local aux concentrations utilisées, et assez diluées pour ne pas être nocives aux larves de Batraciens, même après plusieurs heures d'expérience. On a enfin l'avantage de passer insensiblement de la zone alcaline à la zone acide sans changer à proprement parler de sel, puisque l'on est toujours en présence de la même quantité de phosphate, à cette différence près qu'une certaine portion du sel monosodique se trouve remplacée par une partie équimoléculaire du composé disodique.

Aussi, nous avons dilué l'anesthésique local choisi avec les solutions tampons de manière à réaliser des solutions de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2.500, de novocaïne à 1 p. 1.000 et de stovaïne à 1 p. 10.000 formant une gamme de pH allant de 8,2 à 6,8. Ces dilutions 1 p. 2.500 (Cocaïne), 1 p. 1.000 (Novocaïne), 1 p. 10.000 (Stovaïne), ont été choisies de telle sorte que les pouvoirs narcotiques correspondants soient sensiblement semblables. Après l'endormissement, les larves de Batraciens sont extraites des solutions d'anesthésique tamponnées et plongées pour le réveil dans une solution d'eau pure.

Résultats obtenus.

TABLEAU IV

Anesthésique	pH 6,8	pH 7,0	pH 7,2	pH 7,4	pH 7,8	pH 8,1
Chlorhydrate de Cocaïne.	E. 140 m. R 2 m.	67 m. 6 m.	59 m. 8 m.	31 m. 8 m.	17 m. 10 m.	10 m. 13 m.
Stovaïne.	E. 103 m. R. 3 m.	68 m. 10 m.	44 m. 12 m.	32 m. 12 m.	25 m. 16 m.	12 m. 20 m.
Novocaïne.	E. 97 m. R. 5 m.	66 m. 8 m.	48 m. 12 m.	24 m. 20 m.	17 m. 25 m.	10 m. 34 m.

Donc, en ce qui concerne les larves de Batraciens, l'alcalinité favorise et l'acidité empêche l'action narcotique des anesthésiques locaux, du moins dans la marge de nos expériences ; en effet, nous n'avons pu poursuivre nos recherches à des pH extrêmes, paree que d'une part ceux-ci auraient constitué par eux-mêmes des milieux nocifs pour les Tétards et d'autre part, parce qu'à partir de pH 8,2 il y a précipitation de la cocaïne, mais de plus :

1° Si on plonge les Tétards pendant une heure dans les mêmes solutions tamponnées, sans anesthésique *avant* de les immerger dans une solution pure de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2.500, on obtient des résultats analogues, mais moins marqués par exemple :

pH.	6,8	7,0	8,0
E.	60 m.	54 m.	47 m.

2° Si on plonge les Tétards dans les mêmes solutions tamponnées et sans anesthésique mais *après* leur endormissement dans une solution pure d'anesthésique, on note que le réveil est d'autant plus lent que le milieu est plus alcalin, par exemple pour une solution de Chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 500 :

pH.	6,8	7,0	8,0
R..	49 m.	65 m.	76 m.

ainsi on peut dire que les pH élevés non seulement abrègent le temps nécessaire à l'apparition du sommeil, mais encore prolongent la durée de celui-ci.

Interprétation et discussion.

Si nous croyons pouvoir donner comme formelles les conclusions que l'on vient de lire, nous sommes par contre beaucoup plus embarrassés en ce qui concerne leur interprétation correcte. Cette interprétation devrait évidemment s'appuyer sur les nombreux travaux de J. Régnier et de ses collaborateurs. Malheureusement, nous sommes dans l'impossibilité, faute de place, de donner un résumé même très sommaire de ces recherches ; nous nous contenterons donc d'en donner l'allure générale fixée par le Professeur Régnier lui-même de la façon suivante : « Des essais antérieurs nous ont montré que la concentration en ions H des solutions de chlorhydrate de cocaïne exerce une grande influence sur l'activité physiologique de ces solutions.

D'une part, en effet, on a mis en évidence que les solutions de chlorhydrate de cocaïne légèrement alcalinisées présentent une forte augmentation de leur pouvoir anesthésique ; d'autre part, nous avons montré que, sous l'influence de la stérilisation à l'autoclave et surtout sous l'influence d'une conservation très prolongée, se produit une acidification de la solution de chlorhydrate de cocaïne dans l'eau distillée. Cette acidification accompagne la destruction de l'alcaloïde; mais la diminution d'activité constatée dans certains cas tient bien moins à cette destruction, toujours partielle, qu'à une inaptitude de la cellule réceptrice à réagir à l'anesthésique, quand il lui est présenté en milieu trop acide ».

Ajoutons que ces résultats ont été obtenus sur des matériaux biologiques aussi différents que peuvent être par exemple la cornée du lapin, le nerf sciatique de la grenouille et le contenu cellulaire de l'*Ascoïdea rubrescens* (Brefeld).

Nos résultats se trouvent en complet accord avec ceux du Professeur Régnier et ses élèves. Il nous paraît intéressant de comparer ceux obtenus par Mme Ferrand travaillant sur es barbituriques et les larves de Batraciens et qui avait trouvé

que, en ce qui concerne les barbituriques, l'alcalinité de la solution est un facteur tout à fait défavorable vis-à-vis du pouvoir narcotique

Ces résultats étaient d'ailleurs en conformité parfaite avec ceux obtenus autrement par Tiffeneau et Mlle Lévy avec également les barbituriques mais sur d'autres réactifs biologiques que les Tétards. Notre avantage, si l'on peut dire, sur les auteurs qui nous ont précédé et dont les travaux, est-il besoin d'ajouter, ont considérablement facilité notre travail, est donc de pouvoir présenter sur le même réactif biologique, à savoir les larves de Batraciens, l'influence exercée par les modifications du pH sur les barbituriques d'une part et sur les anesthésiques locaux d'autre part et de pouvoir affirmer qu'il y a inversion de l'action favorable ou antagoniste du pH suivant qu'il s'agit de barbituriques ou d'anesthésiques locaux.

Pouvons-nous profiter de cette nouvelle donnée pour ajouter quelque chose à l'explication du mécanisme de l'influence du pH ? Ce mécanisme, si nous le concevons grosso-modo et avec un peu de recul, nous ne pouvons l'imaginer que de deux façons différentes qui d'ailleurs, à la rigueur, pourraient jouer simultanément : ou bien il y a modification de la substance médicamenteuse ou bien il y a modification du réactif biologique (augmentation de la perméabilité, diminution de la concentration liminaire des cellules sensibles) par exemple pour ce qui est de l'application de cette deuxième hypothèse aux Tétards, on peut parler sous l'influence du pH d'une augmentation ou d'une diminution de la perméabilité des branchies et des téguments, d'une dminution ou d'une augmentation de la réceptivité des centres nerveux.

Ceci étant, nous pouvons peut-être formuler à titre de simple hypothèse de travail pour l'avenir les suggestions suivantes :

1° Lorsque nous avons parlé de l'influence de la concentration d'un anesthésique donné sur son pouvoir narcotique, nous avons noté avec soin que plus la concentration était forte, plus l'endormissement était rapide et se maintenait prolongé lorsque le tétard était immergé aussitôt après dans une solution d'eau de ville pure. Le temps que met le tétard pour se réveiller pourrait peut-être donner une idée, toutes conditions restant égales d'ailleurs, sur la quantité d'anesthésique qui avait été fixée sur les centres nerveux. Ainsi lorsqu'un tétard met 52 m. pour sortir d'un sommeil provoqué en 11 m. par une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 500, nous pouvons peut-être dire qu'il avait fixé $52/4 = 13$ fois plus d'alcaloïde qu'un tétard qui plongé dans une solution de chlo-

rhydrate de cocaïne à 1 p. 10.000 sort au bout de 4 m. d'un sommeil qui a mis 184 m. à s'établir. Si cette hypothèse est justifiée, nous pourrions dire de même qu'un têtard qui, plongé dans une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2.500 et à pH 8,1 met 24 m. à sortir d'un sommeil qui a mis 10 m. pour s'établir, a fixé huit fois plus d'alcaloïde qu'un têtard qui, plongé dans la même solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2.500 mais à pH 6,8 a mis trois minutes pour sortir d'un sommeil qui avait mis 160 m. pour s'établir. Dans ces conditions, l'action du pH devrait être considérée comme agissant sur la perméabilité des branchies et téguments et favorisant l'entrée du chlorhydrate de cocaïne dans l'organisme de l'animal.

D'autre part, nous avons déjà dit que si on plonge les têtards dans des solutions tampons aussitôt après leur endormissement dans une solution pure d'anesthésique, on note que le réveil est d'autant plus lent que le milieu est plus alcalin. On pourrait donc interpréter ce phénomène en disant que la même solution qui favorise l'entrée de l'anesthésique dans l'organisme s'oppose à son départ.

2° Nous avons dit qu'avec le même réactif biologique, à savoir les larves de Batraciens, l'action des anesthésiques locaux est favorisée par les pH élevés alors que celle des barbituriques est favorisée par celle des pH faibles; il est évidemment difficile de ne pas mettre ce fait en parallèle avec cet autre fait que dans les anesthésiques locaux c'est le radical basique qui est le support du pouvoir narcotique alors que dans les barbituriques c'est le radical acide (1).

D'autre part, s'il était prouvé que anesthésiques locaux et barbituriques se fixent chez les larves de Batraciens, tout au moins sur les mêmes éléments nerveux, on serait plus tenté, semble-t-il, de penser à une modification physico-chimique de la substance médicamenteuse sous l'influence du pH qu'à une modification de la cellule réceptrice. S'il ne nous est pas possible d'affirmer que ces cellules réceptrices soient les mêmes dans l'un ou l'autre cas, il n'est cependant pas permis de le nier *a priori* sur un organisme relativement encore peu différencié au point de vue nerveux tel que les têtards de grenouille.

(1) Notons cependant que dans des recherches actuellement en cours, G. Dastugue a noté que les sels de morphine voyaient leur toxicité diminuer vis-à-vis des larves de Batraciens en même temps que l'élévation du pH.

Nous verrons plus loin qu'à notre grande surprise, une substance comme la caféïne manifeste à certaines concentrations son action sur les larves de Batraciens, par une narcose absolument typique, absolument identique apparemment à celle déclanchée par les barbituriques et les anesthésiques locaux et dont il est possible d'apprécier de façon parfaite les temps d'endormissement et de réveil.

Dans ces conditions, nous serions tentés de voir dans l'organisation nerveuse des larves de Batraciens tout au moins au point de vue pharmaco-dynamique, un système encore assez rudimentaire et ne disposant que d'un nombre très limité de réponses susceptibles, par conséquent, l'une ou l'autre d'entrer en jeu sous l'influence de médicaments excessivement variés.

On sait d'ailleurs, en ce qui concerne les barbituriques et dans la zone des pH étudiés, que Fischer a pu montrer dans le laboratoire de son maître le Professeur Lapp l'existence de modifications physico-chimiques susceptibles d'expliquer, au moins en partie, les résultats pharmacodynamiques observés. Seule, croyons-nous, l'analyse spectrale des anesthésiques locaux pratiquée à différents pH serait susceptible dans l'état actuel des choses, de nous dire si, oui ou non, on doit accepter comme rendant compte en tout ou partie des modifications de leurs propriétés physiologiques, l'existence de modifications physico-chimiques concomitantes.

Conclusion.

En ce qui concerne les larves de Batraciens, l'alcalinité favorise et l'acidité défavorise l'action narcotique des anesthésiques locaux. Cette action favorable ou antagoniste pourrait s'expliquer par des modifications de la perméabilité branchiale et tégumentaire des têtards ou par un accroissement de l'affinité des centres nerveux pour la substance hypnotique.

Nous ajoutons, toutefois, qu'à notre sens, la possibilité d'une modification dans la structure physico-chimique des anesthésiques en fonction des pH appropriés ne saurait être repoussée *a priori*.

CHAPITRE IV

INFLUENCE DES CRISTALLOIDES

Il nous a paru intéressant de rechercher si la présence de cristalloïdes à des concentrations différentes dans la solution d'anesthésique employée pouvait avoir une répercussion sur la vitesse d'apparition et sur la durée de la narcose. Nous avons examiné à ce point de vue un certain nombre de chlorures de métaux monovalents (Na — K — Am), divalents (Ca et Mg) ; d'autre part, un ose simple : le glucose et un diholoside : le saccharose.

Technique employée.

En ce qui concerne le temps d'endormissement, dans chaque série d'expérience, le bocal témoin renferme une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2.500 ; les autres bocaux renfermaient toujours la même solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2500, mais à laquelle on avait ajouté une quantité de cristalloïde calculée de telle sorte que la concentration en sel ou en sucre fut finalement de M./1.000, M./500, M./200, M./100, et M./10, sans modification de la teneur, en alcaloïde.

En ce qui concerne l'influence des cristalloïdes sur le temps de réveil, tous les têtards étaient endormis dans la même solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 500 sans cristalloïde et répartis pour le réveil dans les différentes solutions de cristalloïdes M./1.000, M./500, M./200, M./100, M./10, sans anesthésique.

Résultats obtenus.

Les moyennes des résultats obtenus peuvent être exprimées de façon schématique dans les deux tableaux suivants :

TABLEAU V

E	0	pH	M./ 1000	M./ 500	M./ 200	M./ 100	pH	M./ 10	R %
Cl Na....	153	7,2	154	157	196	209	7,4	230	38
Cl K.....	165	7,1	181	193	222	230	7,2	256	45
Cl Am ...	163	7,0	163	143	124	130	7,3	—	—
Cl2 Ca...	140	7,25	172	188	200	223	7,4	252	55
Cl2 Mg...	170	7,1	170	172	177	180	7,2	198	14
Glucose..	204	6,98	205	205	215	225	6,95	233	15
Saccharose	201	6,95	176	191	207	212	6,95	228	12

TABLEAU VI

REVEIL	0	M./ 1000	M./ 500	M./ 200	M./ 100	M./ 10
Cl Na.....	40	54	52	48	48	41
Cl K.....	54	75	74	66	57	43
Cl Am.....	67	72	101	115	246	—
Cl^2 Ca.....	49	94	88	78	74	51
Cl^2 Mg.....	48	72	63	53	53	49
Glucose.....	54	50	60	61	65	74
Saccharose,...	50	48	53	53	60	70

Interprétation et discussion.

En définitive, si nous mettons à part le cas du chlorure d'ammonium, tous les cristalloïdes essayés retardent l'apparition de l'endormissement et ce retard ainsi déterminé est d'autant plus accusé que le cristalloïde est en solution plus concentrée, tout au moins dans la marge M./1.000, M./10. Ce retard est en moyenne (pour les solutions M./10) de :

— 55% pour le chlorure de calcium,
— 45% — — potassium,
— 38% — — sodium,
— 15% — glucose,
— 14% — chlorure de magnésium,
— 12% — saccharose.

Par contre, dans les solutions de chlorure d'ammonium, il y a accélération dans l'apparition de la narçose, accélération d'autant plus marquée que la concentration en chlorure d'ammonium est plus grande, mais il est à remarquer qu'il s'agit là d'un cas tout à fait particulier, car si pour tous les cristalloïdes étudiés les solutions M./10 employées pures ne semblent déterminer chez les larves de Batraciens aucun phénomène toxique dans le temps que dure l'expérience et même au-delà, il n'en va pas de même pour le chlorure d'ammonium dont la solution M./10 entraîne la mort des larves en 100 minutes environ à une température de 21°.

Si maintenant les larves endormies dans une solution de cocaïne à 1 p. 500 sont immergées dans des solutions de cristalloïdes pour l'observation du réveil, on note que, suivant le tableau précédent :

a) Les cristalloïdes qui favorisent la narcose (chlorure d'ammonium) retardent le réveil et que ceux qui retardent la narcose favorisent le réveil.

b) Avec les sucres, le retard apporté au réveil est d'autant plus considérable que la concentration est plus grande. Avec les sels, au contraire, le réveil est plus marqué à M./10 qu'à M./1.000.

Ces expériences seraient évidemment d'une interprétation délicate si on voulait essayer de pénétrer dans le mécanisme intime des phénomènes en présence. Notons simplement, d'une part, que nous sommes à l'abri des causes d'erreur dues à l'influence possible du pH, puisque pour les oses la réaction ionique a été trouvée identique en leur présence à ce qu'elle est pour la solution d'anesthésique pure et puisque pour les

sels minéraux, nous avons trouvé pour les solutions concentrées une très légère élévation du pH qui, si elle avait joué seule aurait dû produire un abrégement de l'apparition de la narcose, alors que c'est un retard au contraire que nous avons observé.

Il est probable que la présence de cristalloïdes dans nos expériences s'est manifesté par des modifications dans la perméabilité des enveloppes extérieures, notamment au niveau des téguments et des branchies ce qui a pour conséquence d'entraver ou de favoriser, suivant la dose et le cristalloïde considéré, l'entrée ou la sortie de l'anesthésique. Nous nous permettons ici de rappeler très rapidement les travaux d'Overton (1913-1918), bien qu'ils soient relatifs à une substance très éloignée des anesthésiques locaux, nous voulons parler de la saponine. Les solutions de saponine lèseraient rapidement les épithéliums de la peau et des branchies avant qu'une quantité appréciable de cette substance ait pénétré dans l'organisme et que les autres organes soient atteints.

Les lésions épithéliales permettant une diffusion suivant les lois physiques de l'osmose entre les cristalloïdes du plasma et ceux de la solution environnante, dans les solutions de saponine faites avec de l'eau pure, les têtards vont donc mourir pour l'unique raison que les cristalloïdes du plasma passant dans la solution de saponine, ce départ entraîne une hypotonie mortelle du milieu intérieur.

Mais, si au lieu de dissoudre les saponines dans de l'eau pure on les dissout dans une solution de chlorure de sodium, de chlorure de potassium, de chlorure de calcium, à peu près dans les mêmes proportions ou ceux-ci existent dans le plasma des têtards, les animaux doivent, d'après Overton, continuer à vivre. C'est un point que Souquière a repris dans un des chapitres de sa thèse.

Nous avons envisagé également l'action du sulfate de Na avec une solution de cocaïne et constatons en présence de ce sel une diminution très légère de l'endormissement que l'on peut lire dans le tableau suivant :

pH=7,0	M./10	M./100	M./200	M./500	M./1000	Témoin
E. 28 m.	21	22	23	25	28	survie

de même le sulfate de potasse avec la cocaïne dans les mêmes conditions d'expérimentation nous donne également une diminution de l'endormissement, mais plus marquée qu'avec le sulfase de Na. Voir tableau ci-dessous :

Température = 19° $SO^4 K^2$ + cocaïne 1 p. 2.500

pH=7,0	M./10	M./ 100	M./ 200	M./ 500	M./ 1000	Témoin
E. 51 m.	83 m.	76 m.	69 m.	64 m.	57 m.	Survie

Conclusion.

En définitive, si l'on met à part le cas de chlorure d'ammonium toxique et dans la solution M./10 duquel les têtards témoins ne survivent pas pendant la durée de l'expérience, contrairement à ce qui se passe pour les autres cristalloïdes, les cristalloïdes essayés retardent l'apparition de la narcose.

CHAPITRE V

INFLUENCE D'UN CERTAIN NOMBRE D'AUTRES SUBSTANCES FAVORISANTES OU ANTAGONISTES

Nous groupons dans ce chapitre quelques recherches relatives à l'influence, sur le pouvoir narcotique exercé par les anesthésiques locaux chez les larves de Batraciens, de la nature de l'acide salifiant le para-amino-benzoyldiéthylminoéthanol (novocaïne), la présence de sulfamide et de trois alcaloïdes : l'adrénaline, la caféïne et la nicotine et de quelques eaux minérales.

1° INFLUENCE DE LA NATURE DE L'ACIDE SALIFIANT le PARA-AMINOBENZOYLDIETHYLAMINOETHANOL

On sait d'après les travaux du Professeur Régnier et de son Ecole, l'influence exercée par l'acide salifiant le para-amino-benzoyldiethylaminoéthanol en ce qui concerne toute une série de testsbiologiques (cornée du lapin, fibres sensitives ou motrices de la grenouille, fibres sensitives, nerf lingual du chien, cellules de feuilles d'*Elodea Canadensis*, imbibition du muscle strié, etc...).

Dans notre cas particulier, nous n'avions que deux acides à notre disposition : d'une part le chlorhydrate correspondant à la novocaïne ordinaire et, d'autre part, le gluconate sous forme de dunacaïne du commerce.

En travaillant avec une solution de dunacaïne pure dont le pH est égal à 7,2, et une solution de novocaïne à pH 6,95, nous avons obtenu pour des concentrations de 1 p. 500 (exprimées dans les deux cas en chlorhydrate).

Pour le gluconate à 1 p. 500, endormissement égal à 21 m. et réveil à 12 m. , pour le gluconate à 1 p. 1.000 endormissement égal à 40 m. et réveil à 11 m.

	Gluconate 1 p. 500	Gluconate 1 p. 1000
E.	21 m.	40 m.
R.	12 m.	11 m.

et pour le chlorhydrate à 1 p. 500 : endormissement égal à 11 minutes et réveil à 18 minutes, pour le chlorhydrate à 1 p. 1000 endormissement égal à 21 minutes et réveil à 14 minutes.

	Chlorhydrate 1 p. 500	Chlorhydrate 1 p. 1000
E.	11 m.	21 m.
R.	18 m.	14 m.

En d'autres termes, malgré un pH plus élevé dans la solution de gluconate, qui agissant seul aurait dû produire un abrègement du temps d'endormissement, nous avons une augmentation de celui-ci, mais cette augmentation devient plus forte si par addition convenable d'HCl dilué nous ramenons le pH de la solution de gluconate à une valeur de 6,95, c'est-à-dire égale au pH de la solution de novocaïne.

Dans ces conditions, on obtient dans la solution de gluconate à :

1 p. 500 { E. à 30 m. / R. à 12 m.
1 p. 1.000 { E. à 51 m. / R. à 7 m.

Ces résultats viennent donc confirmer, s'il en était besoin, sur ce point particulier, les travaux antérieurs de l'Ecole de Régnier, car dans ses recherches le gluconate est habituellement avec le citrate, le sel qui diffuse le plus lentement et qui correspond aux effets physiologiques les plus tardifs.

Conclusion.

A égalité de pH et de température, le gluconate de para-aminobenzoyldiethylamino-éthanol (Dunacaïne), requiert pour provoquer l'endormissement un temps triple que le chlorhydrate de novocaïne pour de sconcentrations ramenées à 1 p. 500 en chlorhydrate de para-aminobenzoyldiethylamino-éthanol.

2° INFLUENCE DES SULFAMIDES

On sait que pour expliquer le pouvoir bactériostatique des sulfamides Mac Intosh et Whitby ont émis l'hypothèse que ceux-ci agissaient en neutralisant un certain métabolite ou un certain enzyme indispensable à la multiplication microbienne.

Un peu plus tard, Woods (1940), en concentrant dans certaines fractions l'activité antisulfamide de l'autolysat de levure, montrait que la substance antisulfamide présente dans cette fraction possède deux groupements chimiques indispensables à son activité biologique, à savoir : un groupement carboxyle et un groupement arylamine d'où l'idée qu'il s'agissait de l'acide paraaminobenzoïque. C'est à deux autres Anglais, Rubbo et Gyllipsie, puis à Kuhn, que revenait ensuite le mérite d'isoler des levures l'acide paraaminobenzoïque lui-même.

Aussitôt essayé l'acide para aminobenzoïque s'est révélé comme un antisulfamide extrêmement puissant. Comme d'autre part cet acide est pour certains microbes un facteur de croissance actif, dont l'activité se manifeste encore à la dilution de 10^{-11}, on admet à l'heure actuelle que c'est bien le métabolite sur lequel va s'exercer l'action du sulfamide.

Depuis lors, il est courant de considérer non seulement l'acide para aminobenzoïque, mais les substances qui en dérivent comme la novocaïne, comme des antagonistes types des sulfamides, d'où l'idée que nous avons eue de voir si les sulfamides ne seraient pas capables d'empêcher ou de retarder l'action narcotique développée en présence de novocaïne sur les larves de Batraciens.

Techniques et résultats.

En ce qui concerne les doses de sulfamides à employer, nous savons par un travail antérieur de R. Stoll, 1942, que le 1162 F (septoplix) mis en présence de larves de *Rana temporaria*, même à la concentration de 1 p. 200, permettait aux animaux d'y vivre plusieurs jours bien que cessant de s'alimenter et de croître. Nous avons donc employé le 1162 F à des concentrations de 1 p. 1000, 1 p. 500, 1 p. 250 et nous avons vérifié notamment que les témoins placés dans la solution la plus concentrée de septoplix ne présentaient aucun phénomène particulier apparent au bout de plusieurs heures.

Par contre, des solutions de novocaïne à 1 p. 1000 effectuées avec les liquides précédents ne nous ont pas permis de mettre

en évidence bien que à égalité de pH le pouvoir antagoniste que nous nous étions attendus à voir se manifester. Tout au plus, aurions-nous trouvé une légère amélioration du temps d'endormissement comme l'indiquent les chiffres suivants :

En présence de Septoplix à 1 p. 1000 E en 40 m.

— à 1 p. 500 E en 32 m.
— à 1 p. 250 E en 26 m.

Conclusion.

Avant le 1162 F (septoplix) même à la concentration 1 p. 250, nous n'avons pu obtenir de modifications appréciables du temps d'endormissement, dans le sens d'un antagonisme.

3° INFLUENCE DE L'ADRENALINE

On sait que *in vivo* la novocaïne possède une action vasodilatatrice que l'on a l'habitude de compenser par addition d'adrénaline à ses solutions. Cette addition empêche la novocaïne de diffuser et augmente l'intensité et la durée de l'anesthésie locale. Nous avons donc jugé intéressant d'expérimenter l'action de l'adrénaline dans nos propres conditions expérimentales.

Technique.

Nous avons utilisé le chlorhydrate d'adrénaline sous forme de la solution acide du Codex :

Adrénaline.....	1 gr.
ClNa	7 gr. 5
$SO^3 Na^2$	0 gr. 80
HCl N/1	10 cc.
Eau distillée.....	1.000 cc.

Nos solutions de novocaïne témoin ont été faites avec une liqueur analogue (sans adrénaline), de telle sorte qu'il y avait égalité d'acidité ionique entre toutes les solutions.

Résultats.

Dans ces conditions, nous avons trouvé que la présence de chlorhydrate d'adrénaline à partir d'une concentration égale à 0,002 p. 1000 abrège le temps d'endormissement provoqué par

la novocaïne à 1 p. 1000. Cette accélération atteignant sensiblement 50% en présence de la teneur maxima en chlorhydrate d'adrénaline que nous avions essayée et qui correspondait à 0,020 p. 1000.

4° INFLUENCE DE LA CAFEINE

Pour étudier l'influence exercée par la caféïne, il nous a été nécessaire de dissoudre l'alcaloïde dans une solution à 5 p. 1000 de benzoate de sodium.

Par suite, nous avons constaté que dans une solution de benzoate de soude à 5 p. 1000 pure, les têtards survivent plusieurs heures, sans phénomènes toxiques apparents et nous avons de la sorte pu établir toutes nos solutions en présence de benzoate de soude de manière à ce qu'elles se trouvent entièrement comparables à ce point de vue. N'ayant pu trouver de renseignements bibliographiques, nous avons dans une première série d'expériences recherché l'action propre de cet alcaloïde employé pur (sauf la présence indispensable de benzoate de soude). Dans ces conditions, nous avons été assez surpris d'obtenir encore une action « narcotique » sensiblement analogue à celle antérieurement décrite pour les barbituriques et les anesthésiques locaux. Action « narcotique » parfaitement appréciable et mesurable par les temps d'endormissement et de réveil. Cette constatation nous permet de répondre, dans une certaine mesure, à une question déjà soulevée dans le premier chapitre de ce travail, à savoir : les mesures effectuées dans nos expériences correspondent-elles à l'application d'un pouvoir narcotique réel ou simplement d'un pouvoir toxique global ? En réalité, peut-être est-ce mal poser le problème en présence d'animaux tel que les larves de Batraciens.

Peut-être serait-il plus juste de dire que nous sommes en présence d'animaux dont l'architecture et la différenciation du système nerveux central sont encore très sommaires et qui n'ont à leur disposition qu'un nombre de réactions très limitées, chacune d'elles pouvant être déclenchée sous l'influence d'actions pharmacodynamiques très diverses.

Quoiqu'il en soit, nous avons obtenu les résultats suivants schématisés dans les tableaux ci-contre :

Benzoate de Na (5 p. 1000) plus caféïne

Caféïne	1 p. 250	1 p. 500	1 p. 1000	1 p. 2500	1 p. 5000	1 p. 10000
E.	24 m.	38	70	89	118	Pas d'E. après 24 h.
R.	Pas de réveil après 24 h.	65	18	8	6	

Si on reprend les mêmes expériences, mais cette fois avec en présence de cocaïne à 1 p. 2500 à égalité d'acidité ionique, on a les résultats schématisés par le tableau ci-dessous :

pH=6,98 Cocaïne benzoatée	Caféïne 1 p. 250 benzoatée + cocaïne benzoatée 1 p. 2500	1 p. 500	1 p. 1000	1 p. 2500	1 p. 5000	1 p. 10.000	Caféïne benzoatée 1 p. 250	Benzoate soude à 1 p. 2500
E. 45 m.	15 m.	20	24	30	36	39	20	
R. 14 m.	175 m.	75	45	20	12	9	mort	survie

Conclusion.

On pourrait donc dire que aux concentrations où la caféïne et la cocaïne ont l'une et l'autre une action anesthésique, les pouvoirs narcotiques ne font que s'additionner. Il est plus intéressant de relever que même à une dilution de 1 p. 10.000 où la caféïne n'a pas elle-même aucune action anesthésiante, elle détermine cependant une action favorisante vis-à-vis du pouvoir narcotique de la cocaïne.

5° INFLUENCE DE LA NICOTINE

René Hazard avait signalé dans une série de travaux récents que la novocaïne s'oppose aux effets parasympathomimétiques et sympathomimétiques de la nicotine sur le cœur, les vaisseaux et l'intestin. A la dose de 0 gr. 05 par kilogramme chez le chien, elle empêche l'alcaloïde du tabac de donner successivement ralentissement cardiaque puis tachycardie, hypotension, puis hypertension, excitation, puis inhibition intestinale.

Ainsi un antagonisme peut-il être retouvé dans nos conditions expérimentales sur les larves de Batraciens ?

En ce qui concerne tout d'abord l'action propre exercée par la nicotine, nous avons pu voir que des dilutions échelonnées de 0,063 à 2,5 p. 100.000 de nicotine ne fournissent aucun phénomène toxique apparent même après 10 heures et à une température de 21° (1).

Ces expériences répétées en présence de novocaïne en solution à 1 p. 1000, ont montré que dans les mêmes conditions où l'endormissement en présence de novocaïne pure en solution à 1 p. 100 donnait un temps d'endormissement variant de 50 à 54 m. on a obtenu en présence de nicotine les résultats suivants et différents selon la concentration en nicotine :

Nicotine plus Novocaïne à 1 p. 1.000

2,52 p. 100.000	5 p. 100.000	7,36 p. 100.000	10,08 p. 1000.00
E. 34 m.	27 m.	19 m.	15 m.

Toutefois, étant donné que les solutions de novocaïne pure dans l'eau de ville ont un pH = 6,95 et que les solutions de nicotine avaient un pH s'échelonnant de 7,0 à 7,3 pour la solution la plus concentrée en nicotine, on aurait pu objecter que cette élévation de pH aurait été suffisante pour expliquer l'abrégement du temps d'endormissement ; aussi avons-nous entrepris deux nouvelles séries d'expériences.

(1) Ces valeurs de concentration un peu particulières s'expliquent par le fait que pour effectuer nos solutions de nicotine, nous sommes partis de gouttes de cet alcaloïde. Puis une pesée ayant donné 4 gouttes = 126 milligrammes, nous avons calculé, après coup, le titre de chacune de nos dilutions.

Dans la première, nous comparons les temps d'endormissement dans la novocaïne en solution à 1 p. 1000 et à pH 6,95 aux temps d'endormissement dans la même solution additionnée de solution de nicotine à 10,08 p. 100.000 et ramenée à pH 6,95 par addition d'HCl dilué.

Dans la deuxième série d'expérience, nous comparons les temps d'endormissement dans la novocaïne en solution à 1 p. 1000 et ramenée à un pH égal à 7,3 par addition de carbonate de soude, au temps d'endormissement, dans la même solution à pH égal à 7,3 additionnée de solution de nicotine à 10,08 p. 100.000.

Voici les résultats de ces deux séries d'expériences :

	Novocaïne pure	Novocaïne plus nicotine
E dans pH 6,95.....	67 m.	37 m.
E dans pH 7,3.....	32 m.	9 m.

Conclusion.

Nous concluons donc que dans les conditions ou nous nous sommes placés, la présence de nicotine accélère considérablement la narcose provoquée par la novocaïne et que dans la marge de nos expériences, nous ne retrouvons pas, par conséquent, l'antagoniste démontré par le Professeur Hazard sur d'autres réactifs biologiques entre ces deux médicaments.

6° INFLUENCE DES EAUX MINERALES

La question des modifications de perméabilité produite sous l'influence des eaux minérales a été souvent discutée en hydrologie expérimentale. Au Congrès International d'Hydrologie qui devait se tenir à Strasbourg en octobre 1939, G. Dastugue avait été désigné comme rapporteur général pour exposer l'ensemble de ce problème.

Technique.

A cette question, nous apportons nous-mêmes une contribution de la façon suivante : après avoir constaté qu'il était néces-

saire, dans la plupart des cas, de diluer une eau minérale au quart (en opérant sur l'eau minérale embouteillée du commerce) avec de l'eau de ville pour permettre une survie de plusieurs heures des têtards, nous avons effectué une solution de chlorhydrate de cocaïne avec les eaux minérales diluées au quart.

Résultats obtenus.

Nous avons obtenu les résultats renfermés dans les deux tableaux suivants, le premier correspondant à des expériences effectuées à une température de 17°, le second à une température de 19° :

TABLEAU VII

Eaux Minérales	Dilutions	Survie	pH avec cocaïne 1 p. 2.500	T°	E	R
Eau de ville		—	6.95	17°	79 m.	7 m.
Le Breuil.....	1/4	—	6,8		30 m.	10 m.
Mt-Dore Madeleine..	1/4	—	6,9		94 m.	8 m.
Vichy Hôpital.....	1/4	—	6,95		44 m.	9 m.
Vichy Célestins	1/4	—	6,95		48 m.	9 m.
Vichy Chomel.....	1/4	—	6.95		48 m.	9 m.
Challes.....	1/4	—	7,8		19 m.	25 m.
	1/10	—	7,6		62 m.	11 m.
Royat César.....	1/4	—	7,3		40 m.	20 m.
La Bourboule.....	1/4	—	7,3		40 m.	13 m.
Châtel Gubler.....	1/4	—	6,8	17°	79 m.	7 m.
Eau de ville.....		Survie	6,95	19°	57 m.	8 m.
Le Breuil.....	1/4	—	6,8		22 m.	12 m.
Mt-Dore Madeleine..	1/4	—	6,9		70 m.	9 m.
Vichy-Hôpital.....	1/4	—	6,95		31 m.	9 m.
Vichy-Célestins	1/4	—	6,95		39 m.	9 m.
Vichy-Chomel.....	1/4	—	6,95		33 m.	9 m.
Challes.....	1/4	—	7,8		14 m.	21 m.
	1/10	—	7,6	19°	51 m.	14 m.

Interprétation et discussion.

On voit donc qu'il existe des eaux minérales qui par rapport à la solution de chlorhydrate de cocaïne faite dans l'eau de ville retardent (Mont-Dore Madeleine) ou favorisent (Source du Breuil) l'endormissement. Etant donné ce que nous savons déjà au sujet de l'influence du pH, il ne faut pas nous étonner que des Eaux dont la dilution au quart présente encore un pH très élevé, comme l'Eau de Challes, favorisent l'endormissement.

Mais il est intéressant de souligner qu'avec l'eau du Breuil, où nous avons un pH plus petit que celui de l'eau de ville et qui par conséquent par lui-même devrait produire un retard, nous observons, au contraire, un endormissement rapide.

De même, le retard du Mont-Dore Madeleine, ne peut pas être dû au pH de la solution ; il faut donc, de toute nécessité se rapporter à l'influence des sels.

Le tableau que nous avons donné de cette influence au chapitre III, n'est malheureusement pas suffisant pour que nous puissions nous faire une idée des sels qui dans une eau minérale donnée pourraient être rendus responsables de cette action. Il n'en est pas moins vrai que les résultats présentés aujourd'hui viennent corroborer ceux obtenus il y a déjà longtemps par Billard sur le pouvoir agotoxique et anagotoxique des eaux minérales, travaux auxquels nous ne pouvons que renvoyer.

CHAPITRE VI

INFLUENCE DE L'AGE DES LARVES EN EXPÉRIENCE

Jusqu'ici nous avons étudié sur les larves de Batraciens les variations du pouvoir narcotique des anesthésiques locaux causées par des facteurs extrinsèques (température, acidité ionique, substances favorisantes ou antagonistes, etc...), nous désirons maintenant attirer l'attention sur deux facteurs intrinsèques qui sont :

— L'âge de la larve d'une part et

— le nombre des têtards en expérience d'autre part,

ce dernier point de vue devant faire l'objet du chapitre suivant.

Cet âge de la larve nous le considérons d'ailleurs moins comme une notion d'ordre sidéral apparenté au temps des physiciens que comme un temps physiologique en rapport avec la phase du développement.

Technique et résultats.

Nous avons donc choisi dans nos différents bacs tout d'abord des têtards n'ayant subi aucune des transformations dues à l'apparition de la métamorphose et possédant les plus jeunes une longueur de 17 m/m, les plus âgés une longueur de 28 m/m. Nous avons considéré ensuite des têtards possédant leurs pattes postérieures, puis des têtards chez lesquels les pattes antérieures étaient apparues à leur tour. Chez les animaux possédant les quatre membres nous avons encore établi une subdivision suivant que la queue avait conservé sa longueur normale, ou se trouvait, au contraire, entièrement résorbée, ce dernier cas correspondant au stade qui précède immédia-

tement la phase ultime de la métamorphose, c'est-à-dire le passage de la respiration encore branchiale chez les larves, à la respiration pulmonaire de l'animal parfait.

Les animaux sont comme d'habitude immergés dans une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2500, la température étant de 23° ; on a obtenu les résultats suivants :

Têtards de 17 m/m	Têtards de 28 m/m	Têtards avec pattes postérieures	Têtards avec pattes antérieures plus queue	Têtards avec pattes antérieures sans queue
E. 34 m.	29 m.	26 m.	23 m.	19 m.

Interprétation et discussion.

Le chlorhydrate de cocaïne ne peut pratiquement pénétrer à l'intérieur de l'organisme du têtard pour atteindre les cellules sensibles qu'au niveau des branchies d'une part et des téguments d'autre part.

Or, à supposer que la perméabilité de ces organes reste constante au cours de la phase de développement, il faut tenir compte de la croissance pondérale au cours de laquelle les volumes vont croître beaucoup moins rapidement que les surfaces d'où il devrait résulter, semble-t-il, une augmentation du temps de pénétration et, par conséquent, du temps d'endormissement. Mais, à côté de la croissance pondérale, il faut tenir compte de ce qu'on peut appeler la croissance métamorphique et au cours de cette croissance des modifications si profondes qu'elle entraîne, de toute l'architecture anatomique et histologique de l'individu ; il est possible, bien que nous ne possédions aucune référence à apporter à l'appui de notre hypothèse, qu'il se produise des modifications de volume et de surface capables de compenser celles auxquelles nous venons de faire allusion plus haut.

D'autre part, on pourrait également dire qu'au cours de l'évolution larvaire, le perfectionnement et la spécialisation de certaines parties des centres nerveux postulent comme conséquence une élévation du seuil de la concentration liminaire efficace et que la perméabilité des cellules périphériques ainsi que celle des cellules sensibles a pu diminuer.

Quoiqu'il en soit, il y a là de toute évidence, une série de

facteurs les uns d'ordre positif, les autres d'ordre négatif, admettant une résultante que nous ne pouvons connaître que par voie expérimentale et qui, en ce qui concerne l'action du chlorhydrate de cocaïne dans les conditions où nous nous sommes placés, se traduit pratiquement par une sensibilisation croissante en progression de l'individu avec l'âge.

Conclusion.

En présence d'une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2500, la sensibilité des larves de Batraciens au pouvoir narcotique de l'alcaloïde, apprécié par la recherche du temps d'endormissement, se montre d'autant plus grande que l'animal est plus près de la dernière phase de sa métamorphose.

CHAPITRE VII

INFLUENCE DU NOMBRE DES LARVES EN EXPÉRIENCE

Le 22 novembre 1920, M. et Mme G. Bohn présentaient à l'Académie des Sciences une note sur les « Variations de la sensibilité à l'eau douce, des Convoluta, suivant les états physiologiques et le nombre des animaux en expérience », l'étude de ces petits vers marins de l'ordre des Turbellariés les amenant à conclure : « Toutes conditions égales d'ailleurs, les individus isolés sont infiniment plus sensibles que les individus groupés, comme si le fait d'être groupés constituait pour eux une protection.

Le contraste est souvent saisissant. Soient deux verres de montre, dont l'un contient dans de l'eau de mer diluée à 75 % quelques individus et l'autre plusieurs centaines de convoluta. Les premiers sont cytolisés en quelques heures, les derniers après plusieurs jours. Ce fait nous paraît avoir un haut intérêt pour la physiologie et la biologie générale ». Et en effet, connus depuis sous le nom d'effets de groupe, de pareils phénomènes ont pu être généralisés et étendus à un très grand nombre de réactifs biologiques et de substances médicamenteuses et ont revêtu un intérêt considérable qui d'ailleurs, nous pouvons le signaler en passant, n'a peut-être pas eu encore en pharmacodynamie toutes les applications qu'il mérite ; nous n'avons pu, dans le cadre de ce travail ni de ce chapitre, nous étendre longuement sur les effets de groupe en général, mais nous voulons simplement signaler que pour Bohn et Drzerwina les larves de « *Rana Fusca* » constituent un matériel de choix pour la mise en évidence des phénomènes de groupe vis-à-vis de l'agent colloïdal tout au moins.

Ces auteurs disposent une série de petits cristallïsoires renfermant chacun 25 cc. d'eau et une goutte de collargol. Dans l'un on met 50 embryons de *Rana Fusca* de 7 à 8 m/m

de longueur. Dans les autres on en met 2. Au bout de 15 minutes, on voit déjà que les individus groupés par 2 sont attaqués beaucoup plus brutalement que ceux qui sont groupés par 50. Au microscope, on voit chez les isolés des cellules se détacher en grand nombre de la peau qui apparaît comme rongée, ou bien hérissée de cellules qui y adhèrent encore. Les individus groupés ne présentent rien de comparable. Le contraste s'accentue trois à quatre heures après, les isolés sont inertes ; après six heures, ils sont décomposés. Au contraire, les groupés restent en vie et le lendemain, toujours immergés dans la même solution, ils réagissent et nagent.

Avec des individus plus âgés et des doses plus fortes, le résultat est le même ; de façon constante, tous les groupés survivent et tous les isolés meurent.

Nous nous sommes donc inspiré de ces expériences pour voir s'il était possible de mettre en évidence des effets de groupe chez les larves de Batraciens, vis-à-vis du chlorhydrate de cocaïne.

Technique et résultats.

Nous avons travaillé tout d'abord avec du chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2500 dans des béchers renfermant 200 cc. de solution et avec des têtards groupés par dix ou isolés par unité. Nous n'avons trouvé de la sorte aucune différence appréciable.

Nous avons opéré ensuite en conservant la même concentration en chlorhydrate de cocaïne et le même nombre de larves, mais en réduisant le volume de la solution à 10 cc, nous n'avons obtenu encore de cette façon aucune différence appréciable dans les temps d'endormissement. Par contre, à partir du moment où l'on fait tomber le volume total de la solution à 5 cc. pour dix têtards, d'une part, et un têtard de l'autre, on constate alors des différences assez importantes par exemple :

Têtards groupés	Têtards isolés
E. 1° 120 m.	51 m.
2° 151 m.	87 m.
3° 165 m.	92 m.

Nous ajoutons que des flacons témoins renfermant 5 cc. d'eau pure pour dix têtards ont permis de montrer que ceux-ci pouvaient vivre dans un même volume d'eau aussi réduit, tout au moins, pendant un temps double ou triple de la durée de l'expérience.

Interprétation et discussion.

Comme Bohn et Drzerwina, nous avons donc obtenu un « effet de groupe », mais vis-à-vis du chlorhydrate de cocaïne et non plus de l'argent colloïdal. Comme ces auteurs, nous n'avons obtenu de résultats qu'à partir du moment où l'on compte deux têtards par centimètre cube, ce qui représente évidemment une densité de population, si l'on peut s'exprimer ainsi, considérable.

Comment interpréter ces résultats ?

D'après les mêmes auteurs, on pourrait songer au moins dans le cas de l'argent colloïdal à une substance protectrice secrétée très rapidement par les téguments de la larve et qui ne serait efficace que dans les cas où elle est présente dans le milieu à une concentration suffisante, ce qui exige un très grand nombre de têtards producteurs. Dans d'autres cas, on a mis en évidence le fait que les individus groupés ayant des échanges plus réduits que les individus isolés résisteraient mieux au toxique, car on a montré depuis longtemps que lorsque les animaux sont exposés à un poison, ce sont ceux ayant les plus forts échanges respiratoires qui meurent les premiers.

Nous ne pouvons nous étendre davantage sur ces explications et nous nous contenterons d'en exquisser les applications pharmacodynamiques. De ce point de vue, il faut insister sur le fait que le volume d'une solution de substance toxique a parfois une importance plus grande que la quantité absolue de poison administrée.

Conclusion.

Nous avons pu mettre en évidence « un effet de groupe » chez les larves de Batraciens, vis-à-vis d'une solution à 1 p. 2500 de chlorhydrate de cocaïne et à la température de laboratoire.

L'effet de groupe se manifeste à partir du moment où il y a au moins dix têtards pour un volume de solution égal à cinq centimètres cubes.

CHAPITRE VIII

INFLUENCE DE LA RÉPÉTITION DES EXPÉRIENCES

Certains auteurs admettent (Sollman, Cushny) que l'usage répété de la cocaïne chez l'homme provoque une accoutumance à cette substance de telle sorte que des doses toxiques et mêmes mortelles chez l'individu normal sont parfaitement supportées par le cocaïnomane. C'est pourquoi nous avons cru devoir étudier, tout au moins dans une modeste mesure, l'influence de la répétition des expériences sur le temps d'endormissement au cours de la narcose provoquée par le chlorhydrate de cocaïne chez les larves de Batraciens.

Pour ce faire, nous avons entrepris deux séries d'expériences distinctes :

Dans la première, il s'agissait d'un lot de neuf têtards élevés comme tous les autres dans un bac rempli d'eau de ville renouvelée tous les jours et nourris avec du jaune d'œuf desséché. Ces têtards étaient immergés quotidiennement dans une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2500 jusqu'à endormissement, puis lavés avec de l'eau pure et immergés à nouveau dans leur bac d'origine. Le premier point à noter c'est qu'un pareil traitement ne paraît pas nocif pour les têtards qui ont survécu parfaitement à cet ensemble de manipulation. Cependant on note un retard assez accusé dans l'apparition des phénomènes de métamorphose. Par ailleurs, on s'aperçoit, compte tenu des différences de température, que le temps nécessaire à l'apparition de la narcose, tout d'abord stationnaire et égal à 55 minutes à la température de 18°, allait en croissant à partir environ du 15e jour pour devenir par la suite de 50 à 100 p. 100 supérieur au temps initial par exemple :

E	80 m.	à 17°	le 17e jour
E	68 m.	à 18°	le 18e jour
E	100 m.	à 16°	le 19e jour

Dans une deuxième série d'expériences, on dispose de trois lots de têtards de même origine, mais élevés :

— Le premier dans l'eau de ville.

— Le second dans une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 50.000.

— Le troisième dans une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 100.000.

Les trois lots étant nourris identiquement et comme d'habitude avec du jaune d'œuf desséché. On constate tout d'abord que aussi bien au point de vue de l'évolution pondérale qu'au point de vue du développement de la métamorphose, il n'y pas de différences sensibles entre les trois lots et que les solutions de chlorhydrate de cocaïne de ces titres maintenues de façon permanente au contact des larves et renouvelées tous les jours ne s'opposent pas cependant à leur développement normal.

Si sur de tels animaux on pratique l'épreuve à l'endormissement, tous les six ou sept jours en présence d'une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2500, on trouve que se développe avec le temps une certaine augmentation de l'intervalle d'endormissement, augmentation qui pour les têtards élevés dans la solution à 1 p. 50.000 atteint environ 50 p. 100 au 21e jour par rapport au témoin.

Discussion et interprétation.

Ces expériences sont insuffisantes pour permettre d'affirmer que nous avons créé un état d'accoutumance chez les larves de Batraciens. On sait que l'accoutumance à la cocaïne constitue une question très discutée et, en nous inspirant de la revue générale publiée à ce sujet par Mlle Lévy, dans le Bulletin de la Société de Chimie biologique, il y a une dizaine d'années, nous pouvons rappeler que quelques auteurs ont même émis l'opinion qu'il ne se manifestait chez l'homme aucune résistance à la cocaïne par usage répété de ce médicament. Si des toxicomanes peuvent absorber de fortes doses de cocaïne, c'est pas suite d'une résistance congénitale qui n'existe d'ailleurs pas aux mêmes degrés pour tous les individus.

A l'appui de cette thèse, on signale que les doses élevées de cocaïne supportées par les toxicomanes (6 à 8 gr. par dose journalière), sont très rapidement atteints après quelques jours et ne peuvent être dépassées.

Ainsi, on pourrait admettre chez l'homme que l'administration prolongée de cocaïne ne provoque pas une véritable

accoutumance mais seulement un besoin de la drogue. La question alors se pose de savoir si les animaux sont susceptibles de présenter des phénomènes d'accoutumance à la cocaïne ?

D'après les références citées par Mlle Lévy et pour la majorité des auteurs, ni le lapin, ni le cobaye, ni le chat, ni le chien, ni le singe, ne présenteraient de phénomènes d'accoutumance. Cependant, quelques expérimentateurs auraient signalé chez la souris et chez le chien des phénomènes de cocaïnomanie sous l'influence d'une intoxication chronique. Par contre, on signale que par l'administration prolongée de cocaïne chez diverses espèces animales (cobaye, lapin, chat, chien, singe), on aurait augmenté la sensibilité à cette drogue. Nos expériences vont-elles donc se trouver en quelque sorte isolées et constituer simplement un fait aberrant ?

Peut-être pas cependant, car Kochmann, en 1921 et Cousy, en 1924, ont réussi par perfusions répétées à mettre en évidence des phénomènes de tolérance sur le cœur isolé de grenouille.

Conclusion.

Par répétition des expériences dans les conditions ci-dessus mentionnées, on peut réussir chez les larves de Batraciens à mettre en évidence une augmentation du temps d'endormissement au cours de la narcose provoquée par le chlorhydrate de cocaïne.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

De l'ensemble de nos résultats, nous pouvons conclure ce qui suit :

1° En immergeant des larves de Batraciens dans des solutions d'anesthésiques locaux (chlorhydrate de cocaïne, stovaïne, etc...), il est possible de déterminer une phase de narcose aisément réversible et par l'appréciation du temps d'endormissement et du temps de réveil, tels que nous les avons définis, on peut étudier de façon précise sur ces larves une série de facteurs pouvant influer sur le « pouvoir narcotique » de l'anesthésique donné, dans ces conditions :

a) Pour un anesthésique local donné le pouvoir narcotique croît avec la concentration ; à remarquer que le temps de réveil varie dans des proportions sensiblement inverses, c'est-à-dire que plus l'endormissement est lent à apparaître, plus le réveil s'effectue facilement et vice versa.

b) En ce qui concerne les degrés de pouvoir narcotique de chacun des anesthésiques étudiés, ceux-ci s'échelonnent de telle sorte que si l'on prend celui de la novocaïne pour unité, ceux du chlorhydrate de cocaïne et du chlorhydrate d'eucaïne B seront voisins de 2,5 et celui de la stovaïne de 10.

c) Si l'on compare le pouvoir narcotique que possèdent les anesthésiques locaux à celui manifesté par d'autres substances sur le même réactif biologique, on voit qu'il figure parmi les plus intenses et les plus faciles à apprécier.

2° L'influence de la température sur l'action narcotique des anesthésiques locaux chez les larves de Batraciens ressort nettement de nos expériences, Les températures élevées, quand elles ne deviennent pas toxiques, ont une action très favorable sur la vitesse d'apparition de la narcose, alors que les basses températures retardent considérablement et de façon très régulièrement progressive le moment de l'endormissement.

3° En ce qui concerne les larves de Batraciens, l'alcalinité favorise et l'acidité défavorise l'action narcotique des anesthésiques locaux. Cette action, favorable ou antagoniste, pourrait s'expliquer par des modifications de la perméabilité branchiale et tégumentaire des têtards, ou par un accroissement de l'affinité des centres nerveux pour la substance hypnotique.

Nous ajoutons, toutefois, qu'à notre sens, la possibilité d'une modification dans la structure physico-chimique des anesthésiques en fonction des pH appropriés ne peut être repoussée *a priori*.

4° En ce qui concerne l'influence des cristalloïdes sur le temps d'apparition de la narcose, à part le cas du chlorure d'ammonium toxique et dans la solution M./10 duquel les têtards témoins ne survivent pas pendant la durée de l'expérience, contrairement à ce qui se passe pour les autres cristalloïdes, les cristalloïdes essayés retardent l'apparition de la narcose.

5° Nos expériences sur l'influence d'un certain nombre de substances favorisantes ou antagonistes, nous permettent de conclure :

a) A égalité de pH et de température, le gluconate de para-aminobenzoyldiethylamino-éthanol (Dunacaïne) requiert pour provoquer l'endormissement un temps triple que le chlorhydrate (novocaïne) pour des concentrations ramenées à 1 p. 500 en chlorhydrate de para-aminobenzoyldiethylamino-éthanol.

b) Avec le 1162 F (Septoplix) même à la concentration de 1 p. 250, nous n'avons pu obtenir de modifications appréciables du temps d'endormissement.

c) La présence de chlorhydrate d'adrénaline dans une solution anesthésique de novocaïne, à partir d'une concentration égale à 0,002 p. 1000, abrège le temps d'endormissement provoqué par la novocaïne, cette accélération atteignant sensiblement 50 p. 100 en présence de la teneur maxima en chlorhydrate d'adrénaline que nous avons essayée et qui correspondait à 0,020 p. 1000.

d) Aux concentrations où la caféïne et la cocaïne ont l'une et l'autre une action anesthésique, les pouvoirs narcotiques de chacune d'elles ne font que s'additionner. Il est intéressant de relever que même à une dilution de 1 p. 10.000, où la caféïne n'a par elle-même aucune action anesthésiante, elle détermine cependant une action favorisante vis-à-vis du pouvoir narcotique de la cocaïne.

e) La présence de nicotine accélère considérablement la narcose provoquée par la novocaïne et dans la marge de nos expériences, nous ne retrouvons pas, par conséquent, l'antagonisme démontré par le Professeur Hazard sur d'autres réactifs biologiques entre ces deux médicaments.

f) Quant à l'action des eaux minérales par rapport au chlorhydrate de cocaïne, sur le temps d'endormissement des larves de Batraciens, nous avons observé que les unes retardent l'endormissement (Mont-Dore Madeleine), les autres le favorisent (source du Breuil).

6° En présence d'une solution de chlorhydrate de cocaïne à 1 p. 2500, la sensibilité des larves de Batraciens au pouvoir narcotique de l'alcaloïde, appréciée par la recherche du temps d'endormissement, se montre d'autant plus grande que l'animal est plus près de la dernière phase de sa métamorphose.

7° Nous avons pu mettre en évidence un « effet de groupe » chez les larves de Batraciens vis-à-vis d'une solution de 1 p. 500 de chlorhydrate de cocaïne.

8° Par répétition des expériences, on peut mettre en évidence une augmentation du temps d'endormissement au cours de la narcose provoquée par le chlorhydrate de cocaïne.

BIBLIOGRAPHIE

1° En ce qui concerne les larves de batraciens :

Mme **Ferrand**. *Thèse de Doctorat en Pharmacie, Strasbourg*, 1944.

M. **Souquière**. *Thèse de Doctorat en Pharmacie, Strasbourg*, 1943.

Stoll R. Action du paraminobenzène sulfamide sur le développement de l'œuf de l'embryon et du Tétard de *Rana Fusca*. *C.R. Soc. de Physique Biol. de France*, 1942, 16, p. 136.

2° En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques et pharmacodynamiques générales des anesthésiques locaux :

Hazard R. Action inhibitrices de la novocaïne dans le domaine du système nerveux autonome. *Presse Médicale*, 1945, 12, p. 149.

Hazard R. et **Ravasse J.** La novocaïne subit au contact du sang même in vitro une hydrolyse rapide qui devient totale en quinze à vingt-cinq minutes, avec mise en liberté d'acide para-aminobenzoïque. *C.R. Soc. de Biol.*, 1945. *Séance du 14 janvier* (sous presse) et *Semaine des Hôpitaux*, 1945, n° 6, p. 155.

Launoy L. Notions de pharmacodynamie. Leçons sur la toxicité. Baillière et Fils, Paris.

Lebeau et **Courtois**. Traité de pharmacie chimique. Tome II, fascicule I. Masson et Cie.

Régnier J. et Quevauviller (A). Comparaison de l'activité anesthésique sur le nerf moteur de *Rana Esculenta*, de deux sels de paraaminobenzoyldiethylamino-éthanol : chlorhydrate et phenylproprionate. *C.R. de la Soc. de Biol.*, 1936, 2, 251.

Régnier J., **David R.** et **Sitri R.** De l'influence de l'acide combiné au paraaminobenzoyldiethylamino-éthanol, sur l'action narcotique exercée par cette base sur gasterosteus aculeatus (Epinoche). *C.R. de la Soc. de Biol.*, 1939, 2, p. 726.

Régnier J., Quevauviller A. et Guérin J. La nature de l'acide qui salifie le paraaminobenzoyldiethylamino-éthanol, influence de l'action exercée sur cette base anesthésique locale sur l'inhibition du muscle strié. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1939, 2, p. 728.

Régnier J., Quevauviller A. et Fieyre A. Passage à travers une membrane inerte (cellophane) de sels de paraaminobenzoyl diethylamino-éthanol. Influence de l'acide combiné à la base. *C.R. de la Soc. de Biol.* 1939, 3, p. 402.

Régnier J., David R. et Jean P. Etude comparative des absorptions de paraaminobenzoyldiethylamino-éthanol, à partir de différents sels de cette base : chlorhydrate, citrate, phenylpropionate. *C.R. de la Soc. de Biol.*, 1941, t. 135, p. 185.

Tiffeneau M. Abrégé de Pharmacologie, 4e édition. Vigot Frères, Paris, 1934.

3° En ce qui concerne l'interprétation de nos résultats.

Billard G. Pouvoir anagotoxique de quelques eaux minérales d'Auvergne sur certaines neurotoxines. *Presse Médicale*, 1927, 8, p. 113.

Binet L. et Bourlière F. L'effet de groupe en physiologie. *Presse Médicale*, 1945, 5, p. 59.

Bohn G. et Drzewina A. Variations de la susceptibilité aux agents nocifs avec le nombre des animaux traités. *C.R. de l'Académie des Sc.* 1921, 172, p. 485-487.

Cousy R. Variations bathmotropes du cœur durant l'anesthésie à la cocaïne. *Arch. Nitern. Physiolog.*, 1924, 122 p. 363.,

Dastugue G. Contribution expérimentale à l'étude pharmacodynamique des eaux minérales. Eaux minérales et diastases. *Thèse de Doctorat en Pharmacie*, 1934. Imprimerie Toulousaine Lion et Fils.

Hazard R. *C.R. Soc. Biol.*, 1942, 136, p. 459.

Kochmann M. Wirtung des Kokaïnes auf das Froschlerg ind seine Gewohunng au das gift. *Pfluger's Arch.*, 1921, 190, p. 158.

Lévy J. Sur l'accoutumance expérimentale à quelques poisons. *Bulletin de la Soc. de Chimie Biol.*, 1934, 122, p. 631.

Mac Intosh et Whitby. Pouvoir antisulfamide des peptones. Ses rapports possibles avec les notions actuelles d'antivitamine par J. Taboue. *Bulletin de la Soc. de Ch. Biol.*, 1944, t. 26, p. 138.

Régnier J. et David R. Influence de la concentration des ions H sur le maintien de l'activité physiologique des solutions de chlorhydrate de cocaïne. *C.R. Soc. Biol.*, 1933, 114, p. 977.

Régnier J., Gavaudan P. et Quevauviller A. Etude de l'action du chlorhydrate de cocaïne sur le contenu cellulaire (équilibre cytoplasme-vacuome) de l'Ascoïdea-rubescens (Brefeld). Influences du pH et de la température. *C.R. Soc. Biol.*, 1939, 130, p. 1540.

Régnier J., David R. et Jean P. Etude comparative des absorptions du paraaminobenzoyldiethylamino-éthanol, à partir de différents sels de cette base : chlorhydrate, citrate, phenylpropionate. *C.R. de la Soc. de Biol.*, 1941, t. 135, p. 185.

Régnier J., David R. et Jean L. Comparaison des actions « narcotiques » exercées sur Gasterosteus aculeatus (Epinoche). *C.R. de la Soc. de Biol.*, 1941, t. 135, p. 187.

Richaud A. et Hazard R. Précis de thérapeutique et de pharmacologie. Masson E., Paris, 1935.

Rubbo et Gyllipsie. Pouvoir antisulfamide des peptones. Ses rapports possibles avec les notions actuelles d'antivitamine. *Bulletin de la Soc. de Ch. Biol.*, 1944, 26, p. 139.

Vu :

Clermont-Ferrand, le 8 juin 1945.

Le Président du Jury :

Ch. LAPP.

Vu et approuvé :

Clermont-Ferrand, le 8 juin 1945.

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

A. SARTORY.

Vu et permis d'imprimer :

Clermont-Ferrand, le 12 juin 1945.

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université.

Pour le Recteur,

Le Vice-Président du Conseil de l'Université :

André FORSTER.

TABLE DES MATIERES

Page

Introduction..... 7

Chapitre I..... 9

Chapitre II..... 16

Chapitre III..... 19

Chapitre IV..... 25

Chapitre V..... 30

Chapitre VI..... 40

Chapitre VII..... 43

Chapitre VIII..... 46

Conclusions générales..... 49

Bibliographie..... 52